

- Не смешивайте компоненты наборов с разными номерами лотов.
- Перед использованием необходимо довести реагенты до комнатной температуры.
- Подготовить все образцы и реагенты до начала анализа. После начала анализа, проводить его непрерывно для получения надежных результатов.
- Соблюдать порядок проведения теста.
- Использовать только свежеразведенные образцы.
- Пипетировать все реагенты и образцы на дно лунок.
- Во избежание загрязнения, менять наконечники для образцов и контролей.
- Тщательно мыть микролунок и просушивать их.
- Проводить все шаги инкубации с одинаковым промежутком времени.
- Тестировать контрольные сыворотки или пулы для проверки работы реагентов и теста.
- Не использовать лунки повторно.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках. При использовании этих данных может быть построена калибровочная кривая для полуколичественного определения результатов.

10. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Подготовка буфера для образцов

Развести содержимое каждого флакона концентрата буфера для образцов (5x) дистиллированной водой до общего объема 100 мл перед использованием. Хранить в холодильнике: стабилен при 2-8 °C по крайней мере 30 дней или до даты срока годности, указанного на упаковке.

Подготовка промывочного раствора

Развести содержимое каждого флакона концентрата промывочного раствора (50x) дистиллированной водой до объема 1000 мл перед использованием. Хранить в холодильнике: стабильны при 2-8 °C по крайней мере 30 дней или до даты срока годности, указанного на упаковке.

Подготовка образца

Развести все образцы пациентов 1:100 с разбавителем для образцов. Для этого соединить 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в пробирке и тщательно перемешать.

Контроли готовы к использованию. Не разбавлять.

11. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

- Подготовить необходимое количество стрипов для калибраторов, контролей и разведенных образцов пациентов.
- Пипетировать **100 мкл** калибраторов, контролей и разведенных образцов в дублях в соответствующие лунки.

	1	2	3	4	5	6
A	SA	SE	P1	P5		
B	SA	SE	P1	P5		
C	SB	SF	P2	P..		
D	SB	SF	P2	P..		
E	SC	C1	P3			
F	SC	C1	P3			
G	SD	C2	P4			
H	SD	C2	P4			

SA-SF: standards A to F
P1, P2...C: patient sample 1, 2 ...
C1: positive control
C2: negative control

- Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °C).
- Удалить содержимое лунок и промыть **3 раза 300 мкл** промывочного раствора.
- Пипетировать **100 мкл** раствора ферментного конъюгата (античеловеческие IgG или античеловеческие IgM) в каждую лунку.
- Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре.
- Удалить содержимое лунок и промыть **3 раза 300 мкл** промывочного раствора.
- Пипетировать **100 мкл** раствора ТМБ в каждую лунку.
- Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре.
- Добавить **100 мкл стоп-раствора** в каждую лунку и оставить на 5 минут.
- Читать оптическую плотность при **450 нм** и подсчитать результаты. Рекомендуется бихроматическое измерение при 600-690 нм.

Цвет реакции стабилен 30 минут. Оптической плотности необходимо считать за этот период времени.

12. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

12.1 Контроль качества

Тест считается действительным только, если оптическая плотность при 450 нм для Положительного Контроля (1) и Отрицательного

Контроля (2), а также для Калибраторов А и F совпадают с указанными диапазонами.

12.2 Подсчет результатов

Для данного анализа рекомендуется использовать 4-параметровую функцию с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации.

Подсчитайте значения оптической плотности для каждой калибровочной лунки. На линейно-логарифмической бумаге отметьте усредненные значения оптической плотности каждого калибратора против его концентрации. Постройте стандартную кривую. Концентрации образцов можно высчитать путем интерполяции по стандартной кривой.

Пример расчетов

Данные, приведенные ниже, могут использоваться только в качестве иллюстрации.

anti-PL	No	Position	OD 1	OD 2	Mean	Conc. 1	Conc. 2	Mean	decl.	Conc.	CV %
IgG	STA	A 1/B 1	0.051	0.049	0.050	0.3	0.1	0.2	0.0	3	
IgG	STB	C 1/D 1	0.163	0.160	0.161	6.4	6.3	6.3	6.3	1	
IgG	STC	E 1/F 1	0.310	0.273	0.291	12.8	11.2	12.0	12.5	9	
IgG	STD	G 1/H 1	0.603	0.630	0.616	25	26	26	25	3	
IgG	STE	A 2/B 2	1.122	1.054	1.088	51	47	49	50	4	
IgG	STF	C 2/D 2	1.742	1.787	1.765	98	103	101	100	2	
IgM	STA	A 7/B 7	0.022	0.021	0.022	0.2	0.1	0.2	0.0	3	
IgM	STB	C 7/D 7	0.211	0.205	0.208	6.1	6.0	6.1	6.3	2	
IgM	STC	E 7/F 7	0.465	0.462	0.464	13.0	12.9	13.0	12.5	0	
IgM	STD	G 7/H 7	0.788	0.879	0.833	23	26	24	25	8	
IgM	STE	A 8/B 8	1.411	1.382	1.397	52	50	51	50	1	
IgM	STF	C 8/D 8	1.868	1.852	1.860	101	98	99	100	1	

12.3 Интерпретация результатов

В изучении в нормальных диапазонах были получены следующие значения:

	Антитела к фосфолипидам	
	IgG [GPL Ед/мл]	IgM [MPL Ед/мл]
норма:	< 10	< 10
повышенные:	≥ 10	≥ 10

Положительные результаты должны быть проверены в отношении со всем клиническим статусом пациента. Также каждое решение для терапии следует принимать индивидуально.

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала собственные нормальные и патологические диапазоны сыворотки анти-кардиолипина. Значения ниже следует рассматривать исключительно в качестве примера.

13. ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

13.1 Параллелизм

В исследованиях на разведение сывороток концентрации IgG- и IgM-антител разводились буфером для образцов и тестировались на данном наборе. Набор показывает линейность на всем диапазоне измерений.

13.2 Чувствительность

Нижний предел обнаружения для анти-Фосфолипид Скрининг IgG и IgM дал чувствительность 0.5 Ед/мл.

13.3 Специфичность

Микропланшет покрыт смесью высокоочищенных Кардиолипина, фосфатидил серина, фосфатидил инозитола, фосфатидилового кислоты и человеческого β2-гликопротеина I. Специальные процессы нанесения, разработанные производителем, гарантируют естественную иммуногенную структуру фосфолипидов после иммобилизации на твердой фазе.

Данный набор специфичен для аутоантител к фосфолипидам, β2-Гликопротеину I или комплексу отрицательных фосфолипидов и β2-Гликопротеину I. Перекрестной реактивности не наблюдалось с антителами анти-ДНК и теми типами антител, развивающимися с Сифилисом.

13.4 Калибровка

Данная система калибруется относительно международно признанной контрольной сыворотки от EN Харрис, Луисвилл, США, IRP 97/656 и HCAL/EY2C9.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Анти-Фосфолипид Скрининг IgG/IgM ELISA является диагностическим анализом. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, но должен быть сделан врачом после всех клинических и лабораторных исследований.

15. ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ СУБСТАНЦИИ

Интерференция не наблюдалась при реакции с гемолитическими (до 1000 мг/дл), липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) или билирубином (до 40 мг/дл) образцами сыворотки. Антикоагулянты также не влияют на результаты.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com